

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-130795

(43)Date of publication of application : 18.05.1999

(51)Int.Cl. C07K 5/12  
A61K 38/00

(71)Applicant : YAMANOUCHI PHARMACEUT CO  
LTD

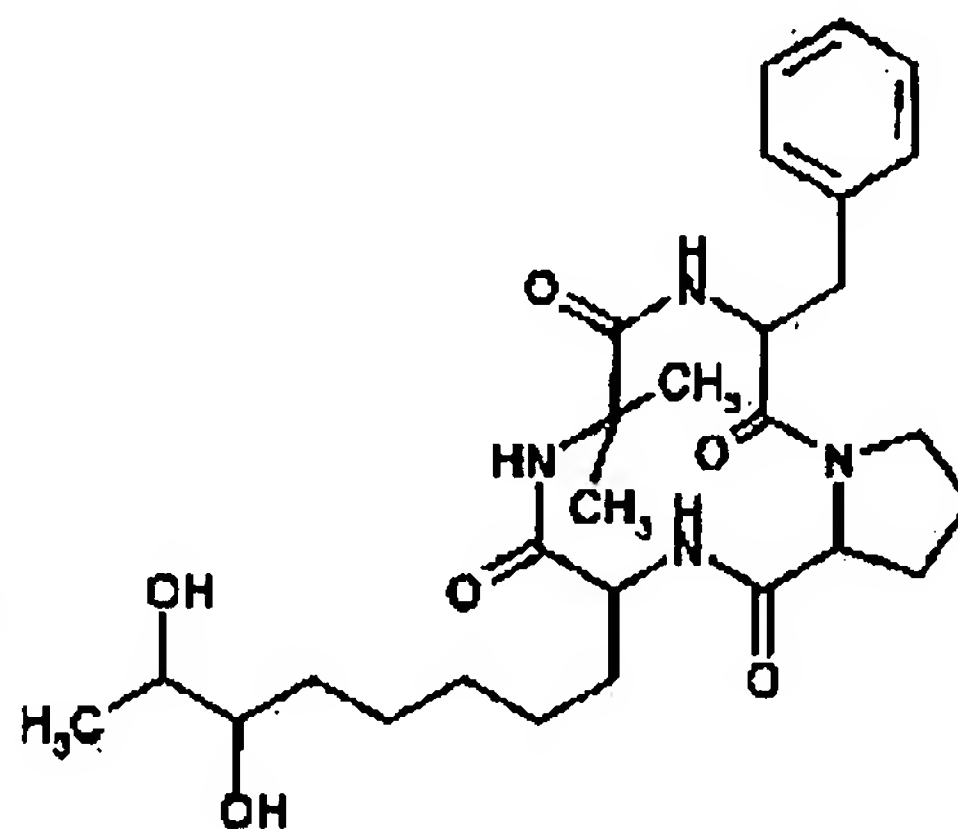
(72)Inventor : NAGAI KOJI  
TANAKA KOICHI  
SETO HARUO  
ARAYA KAZUO

(54) SUBSTANCE YM-175201

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a new compound YM-175201 (or its salt), which has a cytotoxic activity based on a TGF- $\beta$ -like action, and is useful as a medicine such as antitumor agent, is obtained by culturing a new species of microorganism belonging to the genus *Diheterospora*.

**SOLUTION:** The compound (or its salt) shown by the formula, which has a cytotoxic activity based on a TGF- $\beta$ -like action, and is useful as a medicine such as antitumor agent for breast and colorectal cancers, is obtained by culturing a new species of microorganism belonging to the genus *Diheterospora* which is productive of the compound (or its salt) [e.g. *Diheterospora chlamydospora* strain Q58044 (FERM P-16478)], extracting product(s) from the culture, followed by purification.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-130795

(43) 公開日 平成11年(1999) 5月18日

(51) Int.Cl.<sup>9</sup>

C 0 7 K 5/12  
A 6 1 K 38/00

識別記号

Z N A  
A D U

F I

C 0 7 K 5/12  
A 6 1 K 37/02

Z N A  
A D U

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平9-297258

(22) 出願日 平成9年(1997)10月29日

(71) 出願人 000006677

山之内製薬株式会社  
東京都中央区日本橋本町2丁目3番11号

(72) 発明者 永井 浩二

東京都板橋区小豆沢 1-1-8 山之内  
製薬株式会社内

(72) 発明者 田中 幸一

東京都板橋区小豆沢 1-1-8 山之内  
製薬株式会社内

(72) 発明者 瀬戸 治男

東京都八王子市上野町100-5

(74) 代理人 弁理士 長井 省三 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 Y M-175201物質

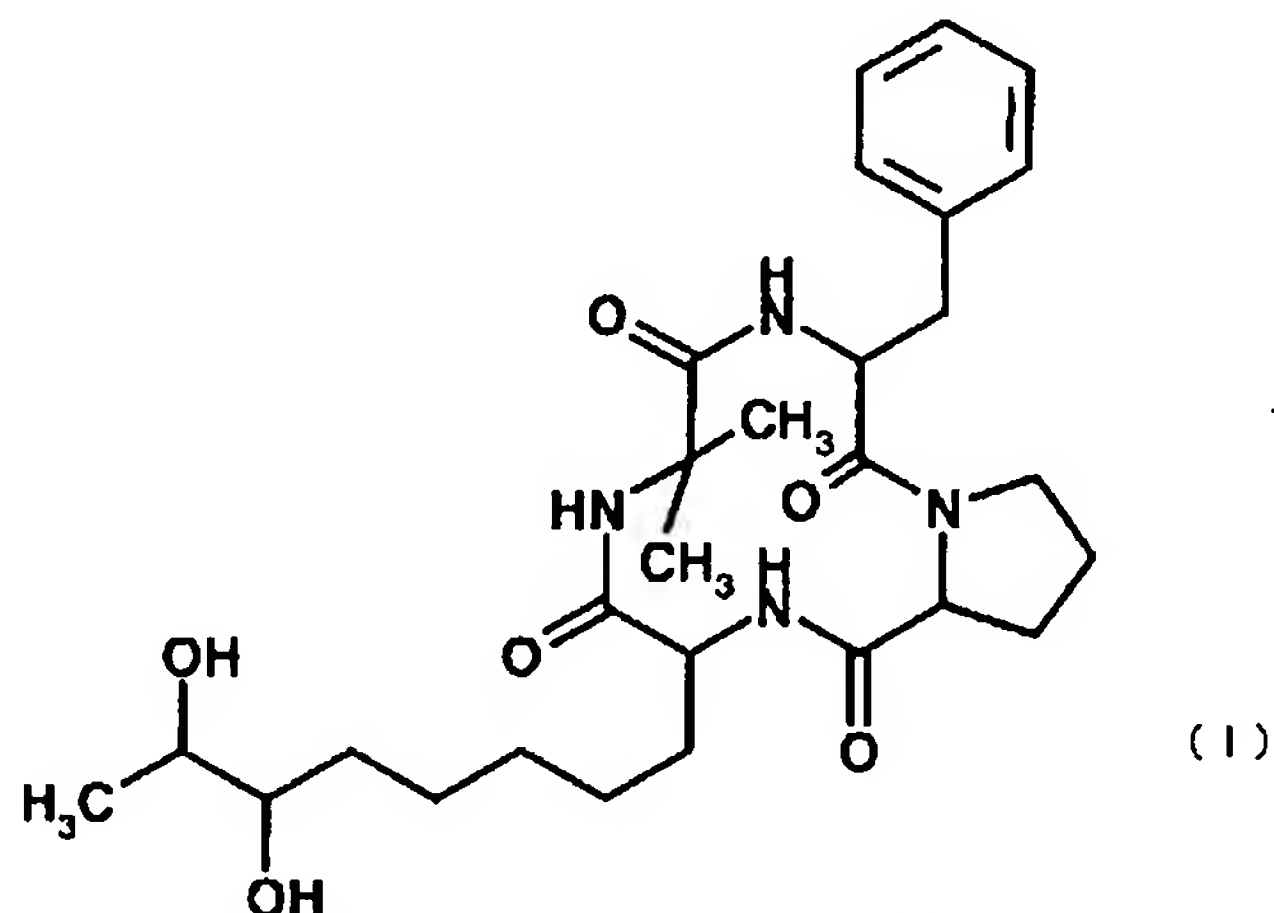
(57) 【要約】

【課題】 本発明は T G F- $\beta$  様作用に基づいた疾患  
の治療薬、抗腫瘍剤として有用な新規物質、並びに該物

質を含有する医薬の提供。

【解決手段】 下記式 (1)

【化1】



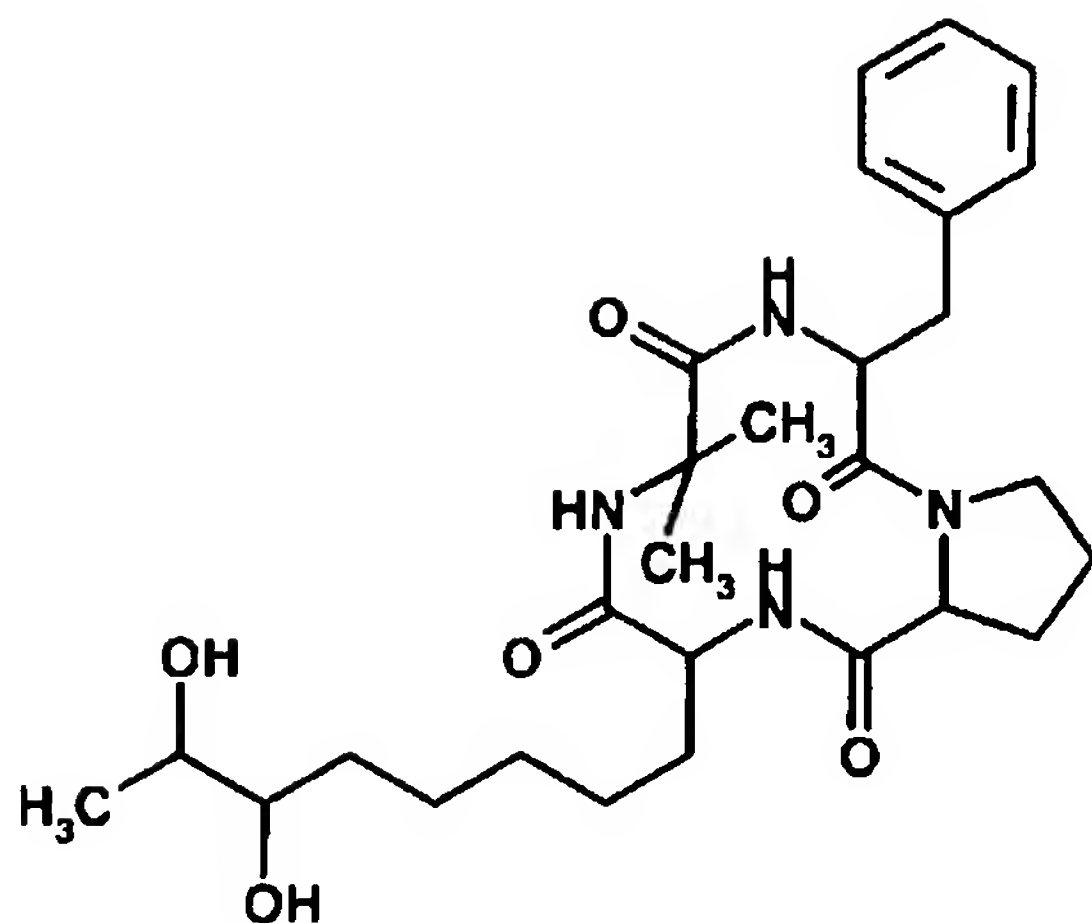
で示される Y M-175201 物質またはその塩、また

は該化合物を含有する医薬。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記式(1)

【化1】



で示されるYM-175201物質またはその塩。

【請求項2】 YM-175201物質またはその塩を含有する医薬。

【請求項3】 抗腫瘍剤である請求項2記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】 本発明はTGF- $\beta$ 様作用を有し、医薬、特に抗腫瘍剤として有用な新規化合物とその塩、及び該化合物を含有する医薬に関する。

【0002】

【従来の技術】 TGF- $\beta$ は細胞の増殖を促進しかつ形質転換を促進する因子として着目され、その機能解明に向けて研究が始まった。現在では、TGF- $\beta$ は各種動

物細胞の生育阻害物質として作用することが判明している(Cell第63巻:245-247頁,1990年)。さらに、腫瘍細胞との関連についても多数報告されている[Br. Med.

J., 296, 1621-1624(1988)、Br. J. Cancer, 61, 612-617(1990)、Br. J. Cancer, 69, 1006-1009(1994)、J. CELL. PHYSIOL., 172, 1-11(1997)、Growth-Factors. 1992; 7(3): 207-13、J-Biol-Chem. 1997 Feb 14; 272(7): 3967-72、Nature. 1992 Nov 26; 360(6402): 361-4]。

また、TGF- $\beta$ 受容体は、種々の腫瘍において腫瘍抑制遺伝子(tumor suppressir gene)として作用すると報告されている[International J. Hematology, 65, 97-104(1997)]。従って、TGF- $\beta$ 様作用を有する物質は、当該作用に基づいて治療可能な疾患の治療剤、例えば抗腫瘍剤となる可能性がある。

【0003】

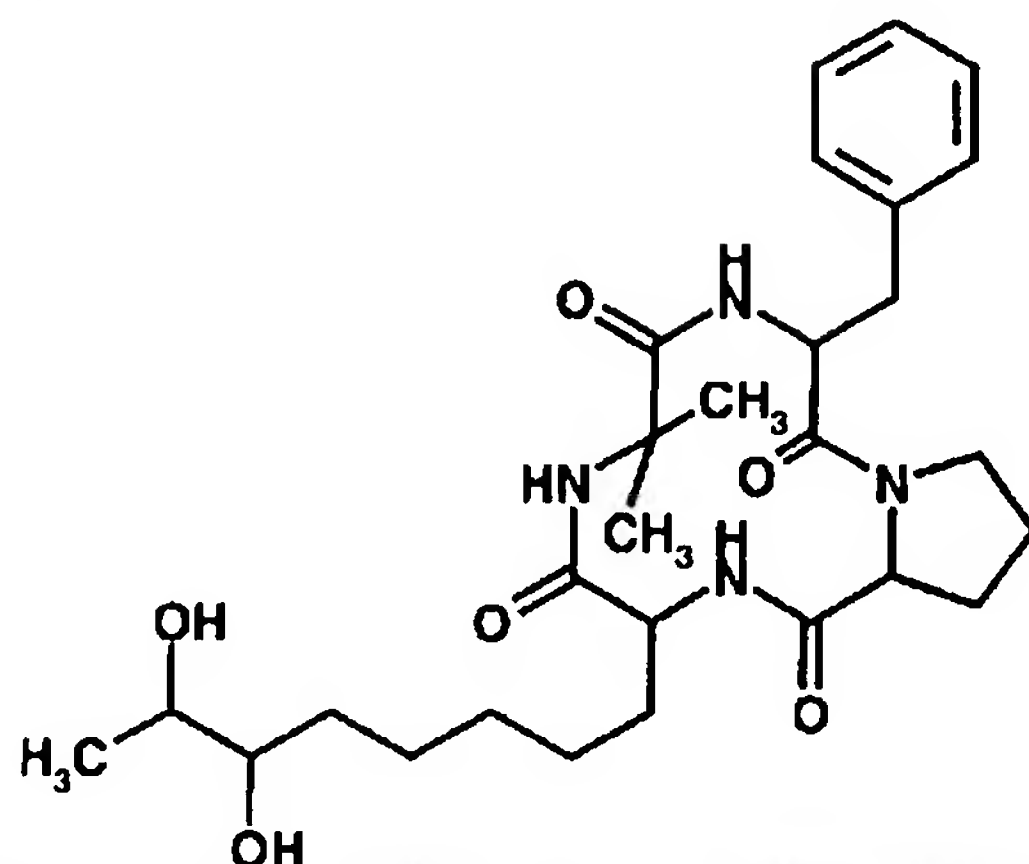
【発明が解決しようとする課題】 本発明はTGF- $\beta$ 様作用に基づく細胞傷害活性を有し、抗腫瘍剤として有用な新規物質及びそれを含有する医薬の提供を目的とするものである。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、天然に存在する多くの微生物が産生する物質につき、鋭意検討した結果、ジヘテロスポラ属に属する新種の微生物で、優れたTGF- $\beta$ 様作用を有する物質を産生する能力を有する微生物を見だし、該微生物を培養し、該培養物から下記式(1)を単離することに成功し本発明を完成した。すなわち、本発明は、①下記式(1)

【0005】

【化1】



(1)

【0006】で示されるYM-175201物質またはその塩、

②YM-175201物質またはその塩を含有する医薬、又は

③抗腫瘍剤である上記②記載の医薬に関するものである。

【0007】

【発明の実施の形態】 以下、本発明につき詳述する。本発明YM-175201物質は、ジヘテロスポラ属(Di heterospora)に属する当該物質生産菌を栄養培地にて培養し、当該物質を蓄積させた培養物から常法によって得られる。当該物質の製造方法において使用する微生物は、ジヘテロスポラ属に属し当該物質の生産能を有する微生物であればいずれも用いることができる。このよう

な微生物としては、例えば、鹿児島県屋久島で採集された土壌より分離されたジヘテロスポラ属に属する不完全糸状菌ジヘテロスポラ クラミドスポリア (*Diheterospora chlamydosporia*) Q 5 8 0 4 4 株を挙げる事ができる。本菌株の菌学的性状は次の通りである。

【0008】 1. 各種培地における性状

(1) バレイショ・ブドウ糖寒天培地

24℃、14日間の培養でコロニーは直径40mmになる。コロニー表面は気生菌糸が発達して羊毛状に盛り上がり、白色からうす黄色を帯びる。フィアロ型分生子の形成はまばらで、アレウロ型分生子が多数形成される。コロニー裏面はうす黄色から黄色になる。

(2) 麦芽エキス寒天培地

24℃、14日間の培養でコロニーは直径30mmになる。コロニー表面は気生菌糸が発達して羊毛状にゆるく盛り上がり、白色からうす黄色を帯びる。フィアロ型分生子、アレウロ型分生子ともに形成されない。コロニー裏面は黄色、中心部は黄褐色になる。

(3) ツァベック寒天培地

24℃、14日間の培養でコロニーは直径46mmになる。コロニー表面は気生菌糸が発達して羊毛状に盛り上がり、白色から灰白色を帯びる。フィアロ型分生子は形成されず、アレウロ型分生子が形成される。コロニー裏面はうす黄色になる。

(4) サブロー寒天培地

24℃、14日間の培養でコロニーは直径24mmになる。コロニー表面は羊毛状で、はじめ白色から後にうす黄色を帯びる。フィアロ型分生子、アレウロ型分生子ともに形成されない。コロニー裏面は黄褐色になる。

【0009】 2. 生理学的性質

生育温度：15～32℃の範囲で生育し、最適生育温度は20～25℃である。

3. 形態的特徴

バレイショ・ブドウ糖寒天培地に生育した菌株を顕微鏡下で観察した。菌糸は無色で隔壁を有し、表面は平滑である。フィアロ型とアレウロ型の分生子を形成する。

(1) フィアロ型分生子

分生子柄：無色で細長く、隔壁を有し、表面は平滑である。単生または2～3本輪生状にフィアライドを形成する。フィアライド：細長く、先端に向かって徐々に細くなる。その大きさは10～20×1～1.5μmである。先端に分生子を形成する。分生子：フィアロ型分生子、大きさ2～4×1.5～2μm、単細胞、亜球形ないし楕円形、無色、表面は平滑である。

(2) アレウロ型分生子

分生子柄：気生菌糸より分枝した短い柄の頂端にアレウロ型分生子を形成する。分生子：アレウロ型分生子、直径20～25μm、縦横に隔壁を形成し、亜球形ないし楕円形、無色～黄色である。

【0010】以上の菌学的性質から、Q 5 8 0 4 4 株の

分類学上の位置を公知の真菌の中から検索すると、ジヘテロスポラ クラミドスポリア (*Diheterospora chlamydosporia*) の記載とほぼ一致した。本種の性状は下記の文献に詳しく記載されている。

・G. L. Barron and H. S. Onion著；Canadian Journal of Botany, 第44巻, 861-869頁, 1966年発行

・W. Gams著；Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes), 190頁, G. Fischer, Stuttgart, 1971年発行

なお、ジヘテロスポラ クラミドスポリアは文献によってはバーティシリウムクラミドスポリウム (*Verticillium chlamydosporium*) と扱われることもあるが (W. Gams著；Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes), 190頁, G. Fischer, Stuttgart, 1971年発行)

、本発明者らはジヘテロスポラ クラミドスポリア (*Diheterospora chlamydosporia*) と同定した。従って、本菌株をジヘテロスポラ クラミドスポリア (*Diheterospora chlamydosporia*) Q 5 8 0 4 4 と命名した。なお、本菌株はジヘテロスポラ クラミドスポリア (*Diheterospora chlamydosporia*) として工業技術院生命工学工業技術研究所に受託番号FERM P-16478号として寄託されている。また、微生物は人工的に又は自然に変異を起こしやすいので、本発明において用いられるヘテロスポラ クラミドスポリア (*Diheterospora chlamydosporia*) Q 5 8 0 4 4 は、天然から分離された微生物の他に、これに紫外線、X線、化学薬剤などで人工的に変異させたもの及びそれらの天然変異株についても包含する。

【0011】 (製造方法) 本発明物質はジヘテロスポラ属に属し、本発明物質生産能を有する微生物を培養することによって得られる。培養は一般微生物の培養方法に準じて行われる。培養に用いられる培地としては、ジヘテロスポラ クラミドスポリア Q 5 8 0 4 4 株が利用する栄養源を含有する培地であればよく、合成培地、半合成培地または天然培地が用いられる。培地に添加する栄養物として公知のものを使用できる。培地の組成は、例えば炭素源としてはL-アラビノース、D-キシロース、D-グルコース、D-フラクトース、シュクロース、イノシトール、L-ラムノース、ラフィノース、D-マンニトール、マンノース、メリビオース、ラクトース、D-ガラクトース、マルトース、トレハロース、サリシン、キサンチン、キチン、デンプン、ブドウ糖、デキストリン、グリセリン、植物油等が挙げられる。窒素源としては肉エキス、ペプトン、グルテンミール、綿実粕、大豆粉、落花生粉、魚粉、コーンスチープリカー、乾燥酵母、酵母エキス、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、尿酸その他の有機、無機の窒素源が用いられる。また、金属塩としては、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、亜鉛、鉄、コバルトなどの硫酸塩、硝酸塩、炭酸塩、リン酸塩



などが必要に応じて添加される。さらに、必要に応じてメチオニン、システイン、シスチン、チオ硫酸塩、オレイン酸メチル、ラード油、シリコン油、界面活性剤などの生成促進物質または消泡剤を添加することもできる。

【００１２】培養条件としては好氣的条件下で培養するのが一般的に有利で、培養温度は１５～３２℃（上記生理学的性質の記載参照）の範囲、好ましくは２０～２５℃付近で行われる。培地のpHは約４．５～８．５、好ましくは約５～７．５の範囲に調整すると好結果が得られる。培養期間は培地の組成、温度条件に応じて適宜設定されるが、通常２～１４日程度、好ましくは４～７日程度である。培養物より目的とする本発明物質を単離するには、微生物が産生する代謝産物に用いる通常の抽出、精製の手段が適宜利用できる。例えば培養物質中の該物質は培養液をそのままか、又は遠心分離あるいは培養物に濾過助剤を加えて濾過して得られた培養液に酢酸エチル等の水と混和しない有機溶剤を加えて抽出する。また、培養液を適宜の担体に接触させ、濾液中の生産物質を吸着させ、次いで適当な溶媒で溶出することにより該物質を抽出することができる。例えば、アンバーライトXAD-2、ダイヤイオンHP-20、ダイヤイオンCHP-20、又はダイヤイオンSP-900のような多孔性吸着樹脂に接触させて該物質を吸着させる。次いでメタノール、エタノール、アセトン、ブタノール、アセトニトリル等の有機溶媒と水の混合液を用いて該物質を溶出させる。このときの有機溶媒の混合比率を低濃度より段階的に又は連続的に高濃度まで上げていくことにより、該物質の含まれる比率のより高い画分を得ることができる。酢酸エチル、クロロホルム等の有機溶媒で抽出する場合には、培養濾液にこれらの溶媒を加え、良く振とうし、該物質を抽出する。次に、上記の各操作法を用いて得た該物質含有画分は、シリカゲル、ODS等を用いたカラムクロマトグラフィー、遠心液々分配クロマトグラフィー、ODSを用いた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）等の定法により、さらに純粋に分離精製することができる。すなわち、TGF- $\beta$ 様作用を指標として、適当な溶剤に対する溶解性及び溶解度の差等を利用する一般の生理活性物質の製造に用いられる手段によって、分離、精製される。これらの方法は必要に応じて単独に用いられ、又は任意の順序に組合せ、反復して適用できる。

【００１３】本発明YM-175201物質は、酸と塩を形成する。酸とは無機酸又は有機酸であり、具体的には塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、硝酸もしくはリン酸等との無機酸、又はギ酸、酢酸、プロピオン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸若しくはエタンスルホン酸等との酸付加塩が挙げられる。また、本発明にはYM-175201物質の水和物、各種溶媒和物、互変異性体及び不斉炭素に基づく立

体異性体などの関連物質の全てが含まれる。さらにYM-175201物質には結晶多形を有する場合もあり、本発明にはこれらの結晶形も全て含まれる。

【００１４】以下に本発明物質の製剤化法、投与方法を詳述する。一般式（１）で示される化合物やその製薬学的に許容される塩の１種又は２種以上を有効成分として含有する医薬組成物は、通常用いられている製剤用の担体や賦形剤、その他の添加剤を用いて、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、丸剤、液剤、注射剤、坐剤、軟膏、貼付剤等に調製され、経口的又は非経口的に投与される。本発明物質のヒトに対する臨床投与量は適用される患者の症状、体重、年齢や性別等を考慮して適宜決定される。

【００１５】本発明による経口投与のための固体組成物としては、錠剤、散剤、顆粒剤等が用いられる。このような固体組成物においては、一つ又はそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤、例えば乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウムと混合される。組成物は、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加剤、例えばステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤や繊維素グリコール酸カルシウムのような崩壊剤、ラクトースのような安定化剤、溶解補助剤を含有していてもよい。錠剤又は丸剤は必要によりショ糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートなどの糖衣または胃溶性あるいは腸溶性物質のフィルムで被膜してもよい。

【００１６】経口投与のための液体組成物は、薬剂的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エチルアルコールを含む。この組成物は不活性な希釈剤以外に溶解補助剤、潤滑剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性又は非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を包含する。水性の溶液剤、懸濁剤の希釈剤としては、例えば注射剤用蒸留水及び生理食塩水が含まれる。非水溶性の溶液剤、懸濁剤の希釈剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エチルアルコールのようなアルコール類、ポリソルベート80（商品名）等がある。このような組成物は、さらに等張化剤、防腐剤、潤滑剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ラクトース）、溶解補助剤のような添加剤を含んでもよい。これらは例えばバクテリア保留フィルターを通す濾過、殺菌剤の配合又は照射によって無菌化される。これらは又無菌の固体組成物を製造し、使用前に無菌水又は無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。

【００１７】本発明物質の溶解性が低い場合には、可溶

化処理を施してもよい。可溶化処理としては、医薬製剤に適用できる公知の方法、例えば界面活性剤（ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油類、ポリオキシエチレンソルビタン高級脂肪酸エステル類、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類、シロ糖脂肪酸エステル類等）を添加する方法、薬物と可溶化剤例えば高分子（ハイドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、ポリビニルピロリドン（PVP）、ポリエチレングリコール（PEG）等の水溶性高分子、カルボキシメチルエチルセルロース（CMC）、ハイドロキシプロピルメチルセルロースフタレート（HPMCF）、メタアクリル酸メチル-メタアクリル酸共重合体（オイドラギットL、S、商品名；ローム・アンド・ハース社製）等の腸溶性高分子）との固体分散体を形成する方法が挙げられる。更に必要により、可溶性の塩にする方法、サイクロデキストリン等を用いて包接化合物を形成させる方法等も採用できる。可溶化の手段は、目的とする薬物に応じて適宜変更できる〔「最近の製剤技術とその応用Ⅰ」、内海勇ら、医薬ジャーナル157-159（1983）及び「薬学モノグラフNo. 1、生物学的利用能」、永井恒司ら、ソフトサイエンス社、78-82〕（1988）参照〕。このうち、好ましくは、薬物と可溶化剤との固体分散体を形成させ溶解性を改替する方法が採用される（特開昭56-49314号、FR2460667号参照）。

#### 【0018】

【実施例】以下、実施例にて具体的に本発明を説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

#### 実施例1

グルコース10g、ポテトスターチ20g、ポリペプトン5g、酵母エキス5g、炭酸カルシウム4g、蒸留水1Lを含む培地（pH7.0）を100mlずつ500ml容のへそ付き三角フラスコに分注し、120℃で20分間滅菌した。パレイショ・ブドウ糖寒天培地に良く生育させたジヘテロスポラ クラミドスポリアQ58044株を抜き取って接種し、24℃、200回転/分の条件で3日間振とう培養し、種培養液とした。次にグルコース20g、マルトース30g、ソイビーンミール1

5g、コーンステイーブリカー10g、ポリペプトン3g、NaCl3g、蒸留水1Lを含む培地（pH6.0）を100mlずつ500ml容の三角フラスコに分注し、120℃で20分間滅菌した。この培地に前記種培養液を2mlずつ接種し、24℃、200回転/分の条件で5日間、振とう培養した。このようにして培養した培養液3リットルについて6000rpmで10分間遠心分離を行った。上清液を酢酸エチルで抽出し、硫酸ナトリウムを添加して脱水した後、減圧下で濃縮乾固した。油状の粗抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、クロロホルム-メタノール（30：1）で展開し、活性画分を濃縮した。次に、セファデックスLH-20カラムクロマトグラフィーに供しクロロホルム-メタノール（1：1）で溶出し、活性画分を濃縮した。最後に、ODS-HPLC（PEGASIL ODSカラム；Senshu-Pak, 20 i. d. (250 mm) に供し、65%メタノール水溶液で溶出して活性を示したピークを分取する事で、YM-175201物質を9mg単離した。

#### 【0019】本発明物質の物理化学的性状

上記の手法で抽出、精製及び単離したYM-175201物質は、下記の物理化学的性状を示した。

色及び形状：白色粉末

融点：74-76℃

旋光度： $[\alpha]_D^{25} -30.3^\circ$  (c 0.19, メタノール)

分子式： $C_{28}H_{42}N_4O_6$

高分解能FABマススペクトラム：Found 531.3188 (M+H)<sup>+</sup>, Calcd 531.3183

紫外可視吸収スペクトラム： $(\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} \text{ nm})(\epsilon)$  203 (10,900), 233 (sh, 2,000)

赤外吸収スペクトラム： $(\nu_{\max}(\text{KBr}) \text{ cm}^{-1})$  3400, 3300, 1680, 1670, 1660, 1620, 1520

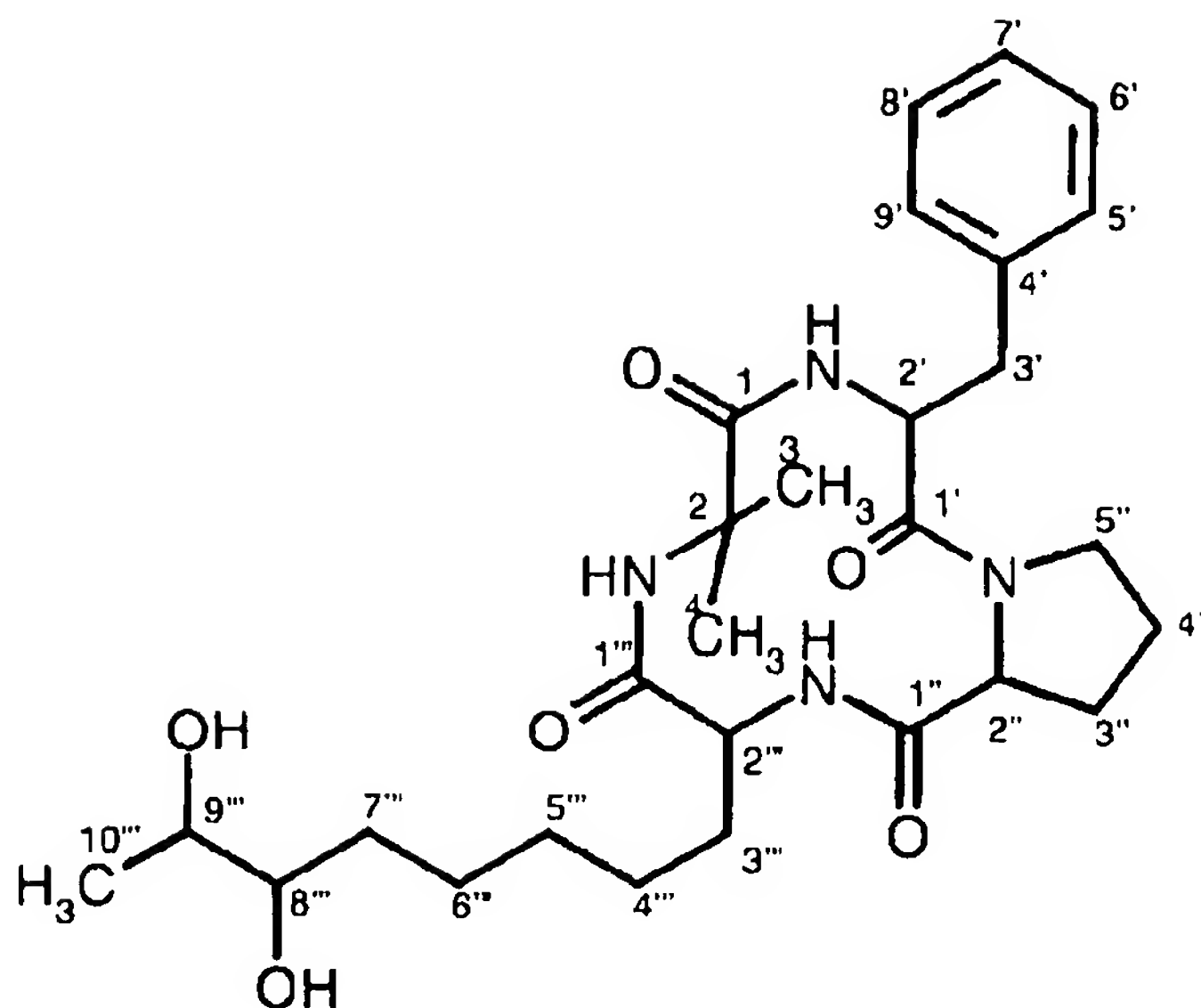
<sup>1</sup>H NMRスペクトラム：表1中 $\delta$ Hとして示した。

<sup>13</sup>C NMRスペクトラム：表1中 $\delta$ Cとして示した。

上記の物理化学的性状からYM-175201物質を下図化2に示すような構造を有するものと決定した。

#### 【0020】

#### 【化2】



【0021】

ト値（重クロロホルム中）

【表1】表1. YM-175201物質の<sup>1</sup>H及び<sup>13</sup>C NMR化学シフト値

	No.	$\delta_c$	$\delta_H$
Aib	1	175.6	
	2	58.8	
	3	23.6	1.76 (s)
	4	26.5	1.33 (s)
	NH		5.99 (s)
Phe	1'	172.8	
	2'	53.4	5.15 (dt, $J=5.5, 10.0$ )
	3'	35.8	2.94 (dd, $J=5.5, 13.5$ ), 3.25 (dd, $J=5.5, 13.5$ )
	4'	137.0	
	5', 9'	129.0	7.21 (d, $J=7.0$ )
	6', 8'	128.6	7.26 (t, $J=7.0$ )
	7'	126.7	7.19 (d, $J=7.0$ )
	NH		7.50 (d, $J=10.0$ )
Pro	1''	171.9	
	2''	57.8	4.65 (dd, $J=2.0, 8.0$ )
	3''	24.7	1.76 (m), 2.32 (m)
	4''	25.0	2.16 (m)
	5''	47.0	3.21 (dt, $J=7.5, 10.0$ ), 3.85 (ddd, $J=4.5, 8.0, 10.0$ )
Add	1'''	174.4	
	2'''	54.4	4.18 (dt, $J=7.5, 10.0$ )
	3'''	28.8	1.63 (m), 1.82 (m)
	4'''	29.1	1.29 (m), 1.39 (m)
	5'''	25.2	1.38* (m)
	6'''	25.2	1.38 (m), 1.48* (m)
	7'''	33.1	1.38 (m), 1.48 (m)
	8'''	76.1	3.32 (m)
	9'''	70.9	3.59 (dq, $J=6.0, 6.5$ )
	10'''	19.5	1.19 (d, $J=3.0$ )
	NH		7.11 (d, $J=10.0$ )

【0022】表中の記号は以下の通りである。

Aib:  $\alpha$ -アミノイソブチリック酸 ( $\alpha$ -aminoisobutyric acid)

Phe: フェニルアラニン

Pro: プロリン

Add: 2-アミノ-8, 9-ジヒドロキシデカノイック酸 (2-amino-8,9-dihydroxydecanoic acid)

\*これら2つの値は相互交換可能。また、表1中番号(N o)は上記化2の化学構造式中の炭素原子の位置を示す。

【0023】実施例2

本発明物質のTGF- $\beta$ 様作用、細胞傷害活性を以下の方法で確認した。

TGF- $\beta$ 様作用測定法

TGF- $\beta$ 様活性を検出するため、レポーター遺伝子発現を利用したスクリーニング系を構築した。TGF- $\beta$ 受容体を過剰に発現し、TGF- $\beta$ によりプラスミノーゲン活性化因子-1 (PAI-1)の発現が引き起こされるミンク肺上皮細胞 (Mv1Lu) (Journal of Biolo



gical Chemistry第262巻: 17467-17414頁, 1987年) のP  
A 1-1 プロモーター遺伝子の下流に、蛍光ルシフェラ  
ーゼ遺伝子をトランスフェクションした (Analytical  
Biochemistry第216巻: 276-284頁, 1994年)。上記細胞を  
用いて、化合物を添加したときに得られる蛍光度をTG  
F- $\beta$  様活性の指標にした。その結果、TG F- $\beta$  はP  
A 1-1 プロモーター遺伝子発現の誘導による蛍光度を  
増加させた。同様に、YM-1 7 5 2 0 1 物質は0. 9  
8  $\mu$  M $\sim$ 1. 0 mMの濃度で蛍光度を増加させた。

細胞傷害活性測定法

細胞傷害活性は、MTT法 (Journal of Immunologica

l Methods 第115巻, 61-69頁, 1988年) を用いて測定し  
た。その結果、YM-1 7 5 2 0 1 物質はミンク肺上皮  
細胞に対し、IC 5 0 値において優れた細胞傷害活性を  
示した。

【0024】

【発明の効果】本発明物質は、TG F- $\beta$  様作用及び細  
胞障害活性を有するので、該作用に基づく抗腫瘍剤 (胸  
部腫瘍 (breast cancer等)、または消化器系腫瘍 (col  
orectal cancer等) に対する薬剤等) として有用であ  
る。

---

フロントページの続き

(72)発明者 新家 一男

東京都足立区足立1-5-7-703 キャ  
ッスルマンション五反野